

UNIVERSIDADE PAULISTA

**EFEITO DO CONTROLE GLICÊMICO
DE DIABÉTICOS TIPO II NO REPARO
ÓSSEO PERI-IMPLANTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de mestre em Odontologia.

BRUNA GHIRALDINI

SÃO PAULO

2015

UNIVERSIDADE PAULISTA

**EFEITO DO CONTROLE GLICÊMICO
DE DIABÉTICOS TIPO II NO REPARO
ÓSSEO PERI-IMPLANTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de mestre em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Vieira Ribeiro

BRUNA GHIRALDINI

SÃO PAULO

2015

Ghiraldini, Bruna.

Efeito do controle glicêmico de diabéticos tipo II no reparo ósseo peri-implantar / Bruna Ghiraldini. - 2015.

15 f. : il. color. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, São Paulo, 2015.

Área de Concentração: Clínica Odontológica e Subárea Periodontia.

Orientadora: Prof. Dra. Fernanda Vieira Ribeiro.

1. Implantes dentais. 2. Diabetes mellitus. 3. Expressão gênica.
4. Biomarcadores ósseos. I. Ribeiro, Fernanda Vieira (orientadora).
II. Título.

BRUNA GHIRALDINI

**EFEITO DO CONTROLE GLICÊMICO
DE DIABÉTICOS TIPO II NO REPARO
ÓSSEO PERI-IMPLANTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de mestre em Odontologia.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fernanda Vieira Ribeiro (Orientadora)
Universidade Paulista – UNIP

Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati
Universidade Paulista – UNIP

Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior
Faculdade de Odontologia de Araraquara

RESUMO

O diabetes mellitus é considerado um fator importante que pode interferir negativamente no reparo ósseo peri-implantar. Porém, o efeito do controle glicêmico no reparo ósseo ao redor de implantes em pacientes diabéticos não está esclarecido. O objetivo do capítulo 01 foi determinar o padrão de expressão gênica de marcadores do tecido ósseo, de acordo com o *status* glicêmico de pacientes diabéticos tipo II, enquanto o objetivo do capítulo 02 foi avaliar a influência do controle glicêmico de diabéticos tipo II na estabilidade de implantes dentais, além de avaliar os níveis de moléculas de osteogênese/oclásia no fluido peri-implantar durante o processo de reparo ósseo.

Capítulo 01: Foram selecionados 54 pacientes com indicação para colocação de implantes dentais: Não diabéticos (n=19); Diabéticos tipo II melhor controlados - taxa de HbA1c \leq 8% (n=17) e, Diabéticos tipo II pior controlados - taxa de HbA1c $>$ 8% (n=18). Durante a colocação dos implantes dentais, foram obtidas biópsias de tecido ósseo dos sítios que receberam os implantes com o auxílio de um coletor ósseo. A expressão gênica de TNF- α , TGF- β , RANKL, OPG, Runx2, ALP, BSP, COL-I e OCN foi avaliada por meio de PCR quantitativo. Maiores níveis de mRNA na proporção de RANKL / OPG foram observados nos diabéticos mal controlados em comparação com os diabéticos melhor controlados e os pacientes não diabéticos (p $<$ 0,05). COL-I e BSP foram detectados em quantidade significativamente menor nos diabéticos pior controlados em comparação com os pacientes não diabéticos (p $<$ 0,05).

Capítulo 02: Foram selecionados 51 pacientes com indicação para colocação de implantes dentais: Não diabéticos (n=19); Diabéticos tipo II melhor controlados - taxa de HbA1c \leq 8% (n=16), Diabéticos tipo II pior controlados - taxa de HbA1c $>$ 8% (n=16). Após a colocação dos implantes em estágio único, a estabilidade destes foi mensurada por meio de análise de frequência de ressonância nos períodos *baseline*: 3, 6 e 12 meses. Além disso, os níveis de TGF- β , FGF, OPN, OCN e OPG no fluido peri-implantar foram quantificados após 15 dias, 3, 6 e 12 meses da instalação dos implantes, por meio de avaliação imunoenzimática. Níveis de OPG e OPN nos pacientes não diabéticos foram mais elevados após 12 meses do que em 15 dias (p $<$ 0,05), enquanto que OC e TGF- β foram menores em diabéticos pior controlados após 12 meses, quando comparados aos 15 dias e 3 meses de acompanhamento, respectivamente (p $<$ 0,05). As análises intergrupo mostraram níveis mais baixos de OPN aos 12 meses nos pacientes diabéticos pior controlados, em comparação com os não diabéticos (p $<$ 0,05). ISQ foi maior aos 12 meses, quando comparado ao *baseline* e aos 3 meses em não diabéticos (p $<$ 0,05); no entanto, não foram observadas diferenças durante o acompanhamento em diabéticos, independentemente do controle glicêmico (p $>$ 0,05). Nenhuma diferença foi observada no ISQ entre os grupos, ao longo do tempo (p $>$ 0,05).

Com base nos resultados obtidos nesses estudos, pode-se concluir que a expressão gênica e os níveis no fluido peri-implantar de alguns marcadores ósseos são modulados negativamente pelo mal controle glicêmico, embora não tenha sido observado prejuízo na estabilidade dos implantes em longo prazo.

Palavras-Chave: Implantes dentais. Diabetes mellitus. Expressão gênica. Biomarcadores ósseos

ABSTRACT

Diabetes mellitus is considered an important factor that can negatively affect the peri-implant bone repair. However, the effect of glycaemic control on bone healing around implants in diabetic patients is unclear. The aim of chapter 01 was evaluate the influence of type 2 diabetes on the gene expression of bone-related factors, according to the glycaemic status, while the aim of chapter 02 was evaluate the influence of glycaemic control of type 2 diabetics on implant stabilization and on the levels of bone markers in peri-implant fluid during the healing.

Chapter 01: Were selected 54 patients indicated for placement of dental implants: 19 systemically healthy (SH) patients and 35 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) [17 better-controlled type 2 diabetics (glycated hemoglobin A1c (HbA1c) levels \leq 8%) and 18 poorly controlled type 2 diabetics (HbA1c levels $>$ 8%)]. During the placement of dental implants, bone biopsies of sites that received the implants with the help of a bone collector was obtained. The gene expression of TNF- α , TGF- β , RANKL, OPG, Runx2, ALP, BSP, OCN and COL-I were evaluated by quantitative PCR. T2DM up-regulates the RANKL levels and the ratio of RANKL/OPG, whereas it down-regulates the COL-I and BSP expression ($p < 0.05$). Higher mRNA levels of RANKL/OPG were observed in the poorly controlled compared to better-controlled diabetics and SH patients ($p < 0.05$). A lower amount of COL-I and BSP was detected in the biopsies from individuals poorly controlled compared to SH patients ($p < 0.05$).

Chapter 02: Were selected 51 patients indicated for placement of dental implants: Systemically healthy patients (SH, n=19), better-controlled T2DM (BCDM, n=16), and poorly controlled T2DM (PCDM, n=16). The implant stability quotient (ISQ) was determined at implant placement, 3, 6 and 12 months. Levels of TGF- β , FGF, OPN, OC and OPG in the peri-implant fluid were quantified at 15 days, 3, 6 and 12 months, using the Luminex assay. OPG and OPN levels were higher in SH at 12 month than 15 days ($p < 0.05$), whereas OC and TGF- β were lower in PCDM at 12 months compared to the 15-day and 3-month follow-ups, respectively ($p < 0.05$). Inter-group analyses showed lower OPN levels in PCDM compared to SH at 12 month ($p < 0.05$). The ISQ was higher at 12 months when compared to baseline and 3 months in SH ($p < 0.05$), whereas no differences were observed during follow-up in diabetics, regardless of glycaemic control ($p > 0.05$). No difference in ISQ was observed among groups over time ($p > 0.05$).

Based on the results obtained in these studies, it can be concluded that the gene expression and levels in peri-implant fluid of some bone markers are negatively modulated by poor glycaemic control, although it was not observed damage on the implants stability of long-term.

Keywords: Dental Implants. Diabetes Mellitus. Bone Markers. Gene Expression.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os envolvidos, professores, colaboradores, técnicos de laboratórios, funcionários da clinica da Unip, e em especial a todos os pacientes que gentilmente participaram com tanta vontade, sem vocês nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e acima de tudo agradeço aos meus pais Marcus e Fátima, que mais do que me proporcionar uma boa infância e vida acadêmica, formaram os fundamentos do meu caráter. Obrigada por serem a minha referência de tantas maneiras e estarem sempre presentes na minha vida de uma forma indispensável, nem todos os “obrigadas” do mundo seriam o suficiente para agradecer.

Agradeço ao meu namorado/noivo/quase marido Vinícius, que passou e passa horas assistindo tv com o fone de ouvido pra não fazer nenhum barulho enquanto eu estudo, apenas pra não sair do meu lado, obrigada por toda paciência, pelos conselhos, elogios, cuidado e atenção diária.

Agradeço a todos os professores da equipe de Perio (Fernanda, Suzana, Márcio, Renato, Karina, Fabiano), pela competência, dedicação, atenção, paciência, confiança, incentivo, carinho, ajuda, conhecimento inesgotável ... por entrarem na minha vida e permitir que eu entrasse na de vocês, deixando um pouquinho de cada um em mim, vocês são o exemplo do que um dia eu quero ser.

Agradeço ao Alê, meu super parceiro nesse projeto, em todas as nossas cirurgias e em todos nossos chocolates quentes com pão de queijo na Santa Micaela depois das cirurgias, obrigada pelo bom humor e por sempre tentar me mostrar o lado bom de toda situação.

Agradeço minhas parceiras Gi e Renatinha, entramos juntas nesse barco e vocês transformaram essa jornada muito mais leve, que essa amizade construída nesses últimos anos dure muito mais que nossos periopapers.

E por fim, agradeço a todos que de uma forma ou de outra participaram de tudo isso comigo, Mônica, Van, Mafê, Gi, Re, Brenno ... vocês transformaram os meu dias de trabalho no prazer da convivência e amizade, dividindo comigo a mesma paixão pela nossa profissão, pela periodontia e pela ciência.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço em especial a minha orientadora Fernanda Vieira Ribeiro, que hoje eu tenho o prazer em chamar de amiga, esse projeto foi um presente pra mim, e ele é o resultado da sua confiança no meu trabalho, me permitindo realizar um sonho e um grande passo profissional, obrigada pela excelente orientação com o maior carinho e paciência desde o início, obrigada por todos os ensinamentos, incentivos e conselhos, você fez e faz parte da minha evolução e amadurecimento profissional e pessoal, te admiro muito e tenho muito orgulho de ser a sua orientada.

Obrigada Deus por cada manhã, o essencial é viver.

“Um professor afeta a eternidade; é impossível dizer até onde vai sua influência.”

Henry Brooks Adams

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
CONCLUSÃO GERAL	12
REFERÊNCIAS	13

INTRODUÇÃO

Os implantes dentais têm sido amplamente utilizados com o objetivo de substituir dentes perdidos, exercendo importante papel tanto no tratamento de desdentados totais como parciais. Estudos têm demonstrado elevados índices de sucesso clínico dos implantes dentais em longo prazo¹⁻⁵ - aproximadamente 99% na mandíbula e 90% na maxila - obtidos após o período de 10 a 15 anos de acompanhamento^{1,3,6}.

Apesar dos elevados índices de sucesso observados por meio da reabilitação com implantes dentais¹⁻⁶, certa porcentagem de insucesso ainda persiste. Desse modo, investigações têm tentado determinar os fatores relacionados com as falhas dos implantes dentais. Esposito *et al.*⁷ classificaram esses fatores como: (1) exógenos, relacionados tanto à experiência e técnica do operador, como à biocompatibilidade do material, às características da superfície dos implantes e ao desenho do mesmo; (2) endógenos locais, dependendo da quantidade e qualidade óssea, localização anatômica e presença de enxertos no leito receptor, e (3) endógenos sistêmicos, associados à presença de desordens sistêmicas e aos hábitos do paciente.

No que se refere aos fatores endógenos sistêmicos associados à falha de implantes, indícios sugerem que alguns distúrbios osteometabólicos, reumatológicos, hormonais e ainda alterações de neutrófilos e imunológicas podem influenciar no resultado da terapia com implantes⁸. Nesse contexto, o diabetes mellitus (DM) tem sido considerado uma importante desordem endócrina também associada à redução na osseointegração de implantes dentais, conforme descrito em estudos experimentais⁹⁻¹².

DM é um distúrbio crônico do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas caracterizado pela utilização ou produção deficiente de insulina, resultando em hiperglicemia e subsequentes complicações sistêmicas e bucais¹³. Vários estudos demonstraram que o DM é um fator de risco para as doenças periodontais, influenciando negativamente o estabelecimento e a progressão das mesmas¹⁴. Além disso, estudos mostraram que o diabetes pode estar associado à redução do sucesso na terapia com implantes dentais⁹⁻¹². Embora não haja informações suficientes e estudos clínicos controlados em longo prazo categorizando o diabetes como importante fator sistêmico que negativamente afeta o sucesso dos implantes¹⁵, Moy *et al.*¹⁶ observaram retrospectivamente, após o período de 21 anos, que diabéticos apresentavam significativamente maior risco de falha de implantes do que pacientes não diabéticos.

Adicionalmente, Fiorellini *et al.*¹⁷, em um estudo retrospectivo, analisaram 215 implantes em 40 pacientes diabéticos e observaram que a taxa de sucesso na maxila foi de 85,5% e na mandíbula, de 85,7%. Segundo os autores, o diabetes é um fator sistêmico que pode negativamente interferir na terapia com implantes dentais, uma vez que os índices de sucesso observados são inferiores àqueles obtidos em pacientes saudáveis, embora estudos tenham demonstrado que o controle da doença seja capaz de melhorar o reparo ósseo ao redor de implantes¹⁸⁻¹⁹. Apesar de alguns dados indicarem os efeitos do DM no reparo ósseo peri-implantar, sua influência na concentração de marcadores de osteogênese/clasia no fluido peri-implantar ainda não foi investigada.

Evidências têm demonstrado que os prejuízos relacionados ao reparo ósseo em situações nas quais o DM está presente podem estar relacionados à menor diferenciação e proliferação de células da linhagem osteoblástica e/ou supressão da atividade destas células²⁰⁻²¹. Nesse contexto, McCabe²¹ demonstrou que a formação óssea reduzida relacionada ao diabetes pode estar associada a uma deficiência na diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em células osteoprogenitoras e em osteoblastos maduros. Adicionalmente, foi demonstrado em ratos que o perfil de expressão gênica de animais diabéticos com níveis glicêmicos não controlados pode agravar ainda mais os prejuízos na divisão celular e na osteogênese durante a fase proliferativa de nova formação óssea, após regeneração óssea guiada²².

Entre os mecanismos sugeridos para explicar este comportamento deficiente das células ósseas na presença do DM, Kawaguchi *et al.*²³ mostraram menor expressão de fator de crescimento de fibroblastos (FGF), um importante fator envolvido no processo de reparo ósseo de fraturas, durante as primeiras semanas após a injúria.

Embora existam alguns dados moleculares sobre os efeitos prejudiciais do DM no metabolismo ósseo, a influência do controle glicêmico no comportamento dos marcadores envolvidos no reparo do tecido ósseo ainda é pouco conhecida. Desse modo, seria importante determinar o impacto do controle glicêmico em pacientes diabéticos tipo II no perfil de moléculas relacionadas a osteoblastogênese e osteoclastogênese, por meio de avaliações dos níveis de mRNA no tecido ósseo alveolar de sítios edêntulos designados a receber implantes dentais, e, durante o processo de reparação óssea, por meio da coleta do fluido peri-implantar, e ainda determinar a estabilidade desses implantes de acordo com o estado glicêmico.

CONCLUSÃO GERAL

Embora a estabilidade dos implantes em diabéticos tipo 2 não tenha sido influenciada pelo estado glicêmico após 12 meses de acompanhamento, alguns importantes biomarcadores ósseos, tanto na expressão gênica do osso alveolar como no fluido peri-implantar, são modulados negativamente pelo mal controle glicêmico.

REFERÊNCIAS

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*. 1981; 10(6): 387-416.
2. Zarb GA, Schmitt A. The longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated dental implants: the Toronto study. Part I: Surgical results. *J Prosthet Dent*. 1990; 63(4):451-7.
3. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. Clinical results and marginal bone loss. *Clin Oral Implants Res*. 1996; 7(4): 329-36.
4. Naert I, Koutsikakis G, Duyck J, Quirynen M, Jacobs R, Van Steenberghe D. Biologic outcome of single-implant restorations as tooth replacements: A long-term follow-up study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2000; 2(4): 209-18.
5. Merckse-Stern R, Aerni D, Geering AH, Buser D. Long-term evaluation of non-submerged hollow cylinder implants. Clinical and radiographic results. *Clin Oral Implants Res*. 2001; 12(3): 252-9.
6. Jemt T, Johansson J. Implant treatment in the edentulous maxillae: a 15-year follow-up study on 76 consecutive patients provided with fixed prostheses. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2006; 8(2): 61-9.
7. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological Factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II) Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci*. 1998; 106(3): 721-64.
8. Balshi TJ, Wolfinger GJ. Management of the posterior maxilla in the compromised patient: historical, current, and future perspectives. *Periodontol 2000*. 2003; 33: 67-81.
9. Nevins ML, Karimbux NY, Weber HP, Giannobile WV, Fiorellini JP. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998; 13(5): 620-9.

10. McCracken M, Lemons JE, Rahemtulla F, Prince CW, Feldman D. Bone response to titanium alloy implants placed in diabetic rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000; 15(3): 345-54.
11. Morris HF, Ochi S, Winkler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes: placement to 36 months. *Ann Periodontol*. 2000; 5(1): 157-65.
12. Kopman JA, Kim DM, Rahman SS, Arandia JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Modulating the effects of diabetes on osseointegration with aminoguanidine and doxycycline. *J Periodontol*. 2005; 76(4): 614-20.
13. Brownlee M. Glycosylation and diabetic complication. *Diabetes* 1994; 43: 836-841.
14. Santos VR, Lima JA, Gonçalves TED, Bastos MF, Figueiredo LC, Shibli JA, Duarte PM. RANKL/OPG ratio in sites of chronic periodontitis of poorly-controlled and better-controlled type 2 diabetic subjects. *J Clin Periodontol*. 2010 Dec; 37(12):1049-58.
15. Mombelli A, Cionca N. Systemic diseases affecting osseointegration therapy. *Clin Oral Implants Res*. 2006; 17(2): 97-103.
16. Moy PK, Medina D, Shetty V, Aghaloo TL. Dental implant failure rates and associated risk factors. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005; 20(4): 569-77.
17. Fiorellini JP, Chen PK, Nevins M, Nevins ML. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. . *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000; 20(4): 366-73.
18. Farzad P, Andersson L, Nyberg J. Dental implant treatment in diabetic patients. *Implant Dent*. 2002; 11(3): 262-7.
19. Kwon PT, Rahman SS, Kim DM, Kopman JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Maintenance of osseointegration utilizing insulin therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol*. 2005; 76(4): 621-6.
20. Gandhi A, Beam HA, O'Connor JP, Parsons JR, Lin SS. The effects of local insulin delivery on diabetic fracture healing. *Bone* 2005; 37: 482–490.

21. McCabe LR. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss. *Journal of Cellular Biochemistry* 2007; 102: 1343–1357.
22. Retzepi M, Lewis MP, Donos N. Effect of diabetes and metabolic control on de novo bone formation following Guided Bone Regeneration. *Clinical Oral Implants Research* 2010; 21: 71–79.
23. Kawaguchi H, Kurokawa T, Hanada K, Hiyama Y, Tamura M, Ogata E, Matsumoto T. Stimulation of fracture repair by recombinant human basic fibroblast growth factor in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 1994; 135: 774–781.